

Atmung und Gärung
bei wachsenden und sprossenden Hefezellen
und ihre Beeinflussung durch Phenole

INAUGURAL - DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde der Hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps - Universität Marburg

vorgelegt von

Hans-Jürgen Lind

Zahnarzt aus Winterberg

Marburg 1968

Atmung und Gärung
bei wachsenden und sprossenden Hefezellen
und ihre Beeinflussung durch Phenole

INAUGURAL - DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde der Hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps - Universität Marburg



vorgelegt von

Hans-Jürgen Lind

Zahnarzt aus Winterberg

Marburg 1968



Angenommen von der Medizinischen Fakultät
der Universität Marburg am: 8. 8. 1968
gedruckt mit Genehmigung der Fakultät
Dekan: Prof. Dr. med. R. Siegert
Referent: Prof. Dr. med. W. Schmid
Correferent: Prof. Dr. med. Dr. med. dent. habil. Hans Heuser

Disposition

	Seite
A. EINLEITUNG	1
B. METHODIK	
I. 1. Herstellung großer Hefezellen	2
2. Herstellung kleiner Hefezellen	3
3. Herstellung von Perchlorsäuretrockenextrakt aus Hefezellen	4
a) Belüftungsphase	
b) Extraktionsphase	
c) Lyophilisation	
4. Herstellung von Trockenkochsaft aus Hefezellen	5
II. Versuchsanordnung	
1. Die manometrische Methode nach WARBURG	6
a) Temperaturkonstanz	
b) Schütteln	
c) Manometerzahl	
2. Bestimmung der Zellzahl, Sprossung und Vitalität von Hefezellen	7
a) Zellzählung	
b) Zählung der Sprossung	
c) Bestimmung der Letalität durch Methylenblaufärbung	
3. Statistische Berechnung	8
C. EXPERIMENTELLER TEIL	
I. 1. Ermittlung geeigneter Versuchsbedingungen	9
a) Konzentration der Hefesuspension	
b) Hefetrockenkochsaft und Hefeperchlorsäure- extrakt-Konzentration	
c) Herstellung von Istizin- und Cignolin- Lösungen	
2. Beeinflussung des Stoffwechsels kleiner und großer Hefezellen durch Trockenkochsaft und Troockenperchlorsäureextrakt	11

	Seite
II. Die Wirkung von Phenol auf Stoffwechsel, Sprossung und Anfärbbbarkeit	15
1. Kleine Zellen	15
2. Große Zellen	17
III. Die Wirkung von 1,8-Dioxyanthrachinon (Istizin [®]) auf Stoffwechsel, Sprossung und Anfärbbbarkeit	24
1. Kleine Zellen	24
2. Große Zellen	25
IV. Die Wirkung von 1,8-Dioxyanthranol (Cignolin [®]) auf Stoffwechsel, Sprossung und Anfärbbbarkeit	31
1. Kleine Zellen	31
2. Große Zellen	32
V. Die Wirkung von Chloramphenicol auf Stoffwechsel, Sprossung und Anfärbbbarkeit	39
1. Kleine Zellen	39
2. Große Zellen	40
D. DISKUSSION	46
E. ZUSAMMENFASSUNG	49
F. LITERATURVERZEICHNIS	50

In der vorliegenden Arbeit wurden folgende Abkürzungen verwendet:

$S(\sigma)$	=	Streuung
$M(\bar{x})$	=	Mittelwert
E	=	Einzelwert
N	=	Anzahl der Versuche
$\text{ALPHA}(\alpha)$	=	Irrtumswahrscheinlichkeit
KO	=	Kontrolle
KS	=	Kochsaft
PCE	=	Perchlorsäureextrakt
ATM	=	Atmung
GAER	=	Gärung
Abw.	=	Abweichung
KG	=	Kontrollgruppe
VG	=	Versuchsgruppe



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554409_0078

A. EINLEITUNG

Seit den Untersuchungen von WARBURG (1) über den Stoffwechsel von Tumoren wird die Bedeutung der aeroben Glycolyse für die Zellvermehrung diskutiert. Zweifellos besteht bei experimentellen Tumoren eine Beziehung zwischen Höhe dieser Stoffwechselgröße zur Malignität. Auf der anderen Seite ist es erwiesen, daß auch die Zellatmung für die Zellvermehrung unbedingt erforderlich ist (2), (3).

Wenn man von der einzelnen Zelle ausgeht, so kann gefragt werden, ob es eine bestimmte Stoffwechsellage oder eine bestimmte Konstellation von Metaboliten und Wirkstoffen gibt, welche die Zellteilung in Gang bringen.

Neben den verschiedenen Formen von Ascites-Tumor-Zellen ist für diese Frage die Hefe ein vielverwendetes Untersuchungsobjekt. Neben ihrer leichten Zugänglichkeit hat sie den Vorteil, daß es möglich ist, an ihr Zellwachstum und Zellvermehrung gut zu beobachten.

Ein methodischer Fortschritt für alle Fragen über Zellvermehrung liegt in der Synchronisation von Zellkulturen. Wie bei STOSSEK (4) berichtet wurde, ist eine solche auch bei Hefezellen möglich. Durch fraktioniertes Zentrifugieren lassen sich routinemäßig Zellen verschiedener Größe gewinnen: kleinen Zellen (mittlerer Durchmesser 4u) sind als wachsende, große Zellen (mittlerer Durchmesser 5 - 5,5 u) als vermehrungsbereite zu bezeichnen.

Nach den Untersuchungen von JACOBI (5) müssen kleine Zellen von *Saccharomyces cerevisiae* erst zu einer Größe von 5,5 u heranwachsen, bevor sie sich durch Sprossung vermehren. Bei großen Zellen tritt bei Überführung in ein geeignetes Milieu nach 1 1/2 Stunden praktisch eine 100 %ige Sprossung ein.

Eine solche Trennungsmöglichkeit veranlaßte uns, an beiden Zellarten Atmung und Gärung vergleichend zu untersuchen. Diese Untersuchung wurde auch dadurch nahegelegt, daß in einer vorausgegangenen Arbeit, DEHNER (6) gefunden hatte, daß sich große Zellen

durch einen höheren Gehalt an NADP auszeichnen und daß außerdem bei großen Zellen bei beiden Phosphopyridinnucleotiden die reduzierte Form über die oxydierte Form, im Vergleich zu kleinen Zellen überwiegt.

Als weitere Frage interessierte, ob beide Zellarten gegenüber zelltötenden Agentien verschieden empfindlich sind. Als Testsubstanz wurde Phenol verwendet. Um weitere Anhaltspunkte über die Redoxlage der Zelle zu gewinnen, wurden an kleinen und großen Zellen Stoffe geprüft, welche von Hefezellen reduziert werden können. Dafür boten sich die Polyphenole, 1,8-Dioxyantrachinon (Istizin) und dessen Reduktionsprodukt, 1,8-Dioxyanthranol (Cignolin) an. Bei diesen Untersuchungen wurden neben der Beeinflussung von Atmung und Gärung, die Beeinflussung der Sprossung, sowie die zellabtötende Wirkung an Hand der Supravital-Färbung geprüft. - Da in früheren Untersuchungen bei Chloramphenicol eine Hemmung der Sprossung beobachtet worden war, wurde auch diese Substanz in die Versuche einbezogen.

B. METHODIK

Als Ausgangsmaterial für unsere Versuchsreihen bezogen wir von der Fa. MOORMANN/ Werne a.d. Lippe einmal wöchentlich frisch abgepackte Hefe. Nach Angaben der Herstellerfirma handelt es sich um zwei *Saccharomyces cerevisiae*-Stämme. Diese normale Bäckerhefe wurde in der Originalverpackung im Kühlschrank bei 4°C aufbewahrt. In allen Versuchen wurden nur Hefezellen verwendet, die nicht älter als sechs Tage waren.

I. 1. Herstellung großer Hefezellen

Durch folgende Versuchsanordnung gelang es, aus uneinheitlicher Bäckerhefe sprossungsbereite Zellen von ca. 5 - 5,5 µ Zellgröße zu gewinnen.

In jedes Zentrifugenglas wurde ein Hefewürfel von 40 g gegeben und in 200 ml physiologischer Kochsalzlösung suspendiert. Nach

zweiminütigem Zentrifugieren (STOCK-Zentrifuge) bei Stufe 1 (250 x . g) wurde der Überstand dekantiert, das Sediment mit phys. NaCl aufgefüllt. Dieser Vorgang wurde sechsmal wiederholt. So erhielten wir etwa 8 g von Bakterien befreite, einheitliche Hefezellen, die aber noch keine physiologische Sprossungsbereitschaft aufwiesen. Die gewonnene Zellsuspension wurde durch einen Membranfilter mit einem mittleren Porendurchmesser von 2 μ abgenutscht.

6,72 g dieser Hefezellen
wurden in einer Nährlösung bestehend aus
32,0 ml Kochsaft

285,0 ml Nährsalz nach WILLIAMSON (7)

auf 6 Gaswaschflaschen verteilt und in ein thermostatisch geregeltes Wasserbad von konstant 30°C gegeben. Durch eine Membranpumpe wurde Luft durch die Waschflaschen geleitet. Zur Sättigung der durchgepumpten Luft mit Wasserdampf wurde eine nur mit Wasser gefüllte Waschflasche vorgeschaltet. Durch diese Anordnung erreichte man eine gleichmäßige Verteilung und eine optimale O₂-Versorgung aller Hefezellen. Die zugeleitete Luft entwich durch ein Steigrohr, wodurch die Verdunstung eingeschränkt wurde. In diesem Belüftungsbad wurden die suspendierten Zellen 30 Min. belassen. Die nun herangewachsenen, nichtsprossenden Zellen wurden vom Ansatz abfiltriert und in einer phys. NaCl-Lösung bei 4°C im Kühlschrank aufbewahrt.

In dem Belüftungsansatz wurde eine verhältnismäßig niedrige Zellkonzentration von ca. 2 % verwendet, weil von SCHMID (2) gefunden worden war, daß bei dieser Konzentration die Zellen noch stark atmen, während bei höheren Zellkonzentrationen die Atmung erheblich abnimmt.

I. 2. Herstellung kleiner Zellen

200 g frische MOORMANN-Hefe wurden in 1,25 l phys. Kochsalzlösung im Erlenmeyerkolben suspendiert und auf 8 Zentrifugengläser verteilt. Nach zweiminütigem Zentrifugieren (STOCK-Zentrifuge) auf Stufe 1 (250 x . g) zeigte sich eine Dreischichtung:

Eine obere Schicht I leicht getrübt, eine mittlere trübe Schicht II und am Boden Schicht III, aus sedimentierten Zellen bestehend.

Schicht I enthielt neben sehr kleinen Hefezellen (ca. 2 μ) größere Mengen Bakterien. Schicht I wurde abpipettiert und verworfen. Schicht II wurde von Schicht III dekantiert und mit phys. NaCl auf das Ausgangsvolumen aufgefüllt, dann 30 sec. auf Stufe 2 (1050 $\times$ g) zentrifugiert. Bei der Herausnahme der Zentrifugengläser ließ sich wieder eine Dreischichtung der Suspension feststellen. Schicht I wurde abpipettiert, Schicht II auf 1,25 l Ausgangsvolumen aufgefüllt, Schicht III verworfen. - Die Suspension wurde erneut 2 Min. bei Stufe 1 (250 $\times$ g) zentrifugiert. Danach ließ sich ein Sediment von einer leicht transparenten Suspension unterscheiden. Diese wurde aufbewahrt, der Bodensatz in phys. NaCl erneut suspendiert und bei 2 Min. auf Stufe 1 zentrifugiert. Dieser Vorgang wiederholte sich zweimal. Das verbliebene Sediment wurde verworfen. Die gewonnene Suspension wurde 5 Min. bei Stufe 6 (1900 $\times$ g) zentrifugiert. Es entstand ein klarer Überstand und ein geringes Sediment, das in einer möglichst kleinen Menge phys. NaCl gelöst wurde.

Nach Abnutschen durch einen Membranfilter (Porendurchmesser 2 μ) erhielten wir 2 - 3 g kleine Hefezellen aus einer Ausgangsmenge von 200 g Bäckerhefe. In der Suspension kleiner Zellen ließen sich keinerlei Bakterien oder Verunreinigungen mehr feststellen. Unter dem Mikroskop (800-fache Vergrößerung) zeigten die kleinen Zellen keine Sprossung. Ihre Größe ist einheitlich, der mittlere Zelldurchmesser beträgt nach STOSSEK (4) 4 μ .

Durch fraktioniertes Zentrifugieren und ein vorgeschaltetes Belüftungsverfahren gelingt es also, differenzierte kleine und große Hefezellen herzustellen.

I. 3. Herstellung von Perchlorsäuretrockenextrakt aus Hefezellen

Der Perchlorsäureextrakt wurde modifiziert nach SCHMITZ (8), STOSSEK (4) und WORTBERG (9) hergestellt.

a) Belüftungsphase

210g große Hefezellen wurden in 1 000 ml Nährlösung nach WILLIAMSON (7) suspendiert. Analog dem Belüftungsverfahren zur Herstellung großer Zellen wurde der Ansatz

850 ml Hefekochsaft

7650 ml Nährsalz nach WILLIAMSON

1785 g große Hefezellen

bei 30°C und Sauerstoffzuführung 120 - 150 Min. im Belüftungsbad belassen. Nachdem 80 - 90 % aller Zellen gesproßt waren, wurde die Suspension herausgenommen.

b) Extraktionsphase

1. Hefe und Nährlösung wurden durch Membranfilterung voneinander getrennt. Dieser Vorgang dauerte ca. 5 Min.. Um den Stoffwechsel zu unterbrechen, wurden die abgenutzten Hefezellen in flüssige Luft gegeben (Gefrierstop). Zu 21 g Hefe wurden 100 ml kalte 6 %ige Perchlorsäure (+ 2°C) gegeben und mit eingefroren.
2. Bei 20°C wird die eingefrorene Hefe aufgetaut, anschließend auf einem Magnetrührer 30 Min. im Kühlraum extrahiert.
3. Die Suspension wird 15 Min. zentrifugiert, um Festbestandteile vom wässrigen Perchlorsäureextrakt zu trennen.
4. Neutralisation mit 3 n KOH auf pH 7. Das gebildete Kaliumperchlorat, ein schwer wasserlösliches Salz, wird abfiltriert.



c) Lyophilisation

Der wässrige Extrakt wird lyophilisiert. Man gewinnt einen schaumigen, sehr leicht löslichen, hellgelben Trockenextrakt. Aus einem Ansatz von 100 g Hefe wurden nach der Trocknung etwa 6 g Trockensubstanz gewonnen. Diese hygroskopische Trockensubstanz wird im Kühlraum bei 2°C im Exsiccator unter Lichtabschluß aufbewahrt.

I. 4. Herstellung von Trockenkochsaft aus Hefezellen

Im Erlenmeyerkolben wurden 210 g Hefe in 1 000 ml aqua demineralisata suspendiert.

Die Hefesuspension wurde 15 Min. gekocht, danach 30 Min. bei Stufe 6 (1900 x · g) zentrifugiert. Von den Zelltrümmern wurde der klare, gelbe Kochsaft dekantiert, anschließend in der Gefriertrocknung lyophilisiert und unter gleichen Bedingungen wie der Perchlorsäuretrockenextrakt im Exsiccator aufbewahrt.

Aus dem Ansatz von 210 g Hefe wurden nach der Trocknung 12,12 g Trockensubstanz gewonnen. Daraus errechnet sich: 1 g Trockensubstanz entspricht ca. 17,5 g Frischhefe oder 100 ml 20%igem Kochsaft.

II. Versuchsanordnung

II. 1. Die manometrische Methode nach WARBURG

Wenn in der Biochemie Stoffwechselvorgänge gemessen werden, die unter Bildung oder Verbrauch von Gasen ablaufen, wendet man meist gasometrische Methoden an. Diese Methoden ermöglichen es, unter Berücksichtigung des zeitlichen Ablaufs der in Frage kommenden Reaktionen, selbst geringe Gasmengen quantitativ zu erfassen.

Die von O. WARBURG entwickelten manometrischen Methoden eignen sich vorzüglich zu diesem Zweck. Die WARBURG-Methode ist empfindlich und genau. Besonders geeignet ist sie zur Messung von Stoffwechselvorgängen an lebenden Zellen. (10)

Für unsere Untersuchungen verwendeten wir das von der Firma B. Braun, Melsungen, hergestellte Gerät. Es erfüllt folgende Forderungen:

a) Temperaturkonstanz

Sämtliche Versuche wurden bei einer im Thermostaten eingestellten Temperatur von 24°C durchgeführt. Druckänderungen, die nicht auf Bildung von CO₂ oder Verbrauch von O₂ beruhten, wurden durch die am Thermobarometer abgelesenen Werte korrigiert.

b) Schütteln

Durch Schütteln wird eine gleichmäßige Zellverteilung in der Versuchslösung gewährleistet. Dieses ist für eine konstante Stoffwechselreaktion entscheidend.

c) Manometerzahl

Die von mir benutzte WARBURG-Apparatur nahm 12 Manometer und ein Thermobarometer auf. Durch Normalschliffe, mit hochviskösem Fett beschichtet, wurden Manometer und Reaktionsgefäße miteinander verbunden.

Es wurden geeichte Reaktionsgefäße und Manometer benutzt. Die daraus berechneten Gefäßkonstanten stellen einen stoffspezifischen,

physico-chemischen Koeffizienten dar.

Als Manometerflüssigkeit diente BRODIE'sche Lösung. (23 g NaCl + 5 g Natriumcholat ad 500 ml aqua demst. Dichte: 1,0 g/ml.

Die Messung des O₂-Verbrauchs und der CO₂-Produktion wurde bei kleinen und großen Hefezellen bei konstanter Temperatur (24°C) und Volumen durchgeführt. Das als Thermobarometer fungierende Manometer enthielt in seinem Reaktionsgefäß aqua demst.

Den absoluten Sauerstoffverbrauch von Hefezellen maß ich, indem ich in den zentralen Einsatz eines Reaktionsgefäßes einen gerollten Streifen stärkefreien Filterpapiers gab. Auf diesen pipettierte ich 0,2 ml einer 10 %igen KOH. So wurde die durch Atmungskohlensäure bewirkte Partialdruckänderung ausgeschaltet.



Die abgelesene Druckänderung h ist die allein durch den Sauerstoffverbrauch verursachte Partialdruckänderung $h\text{O}_2$. Nach Multiplikation mit der Gefäßkonstanten für O₂ erhielt man die verbrauchte Menge Sauerstoff.

Der durch CO₂-Entwicklung geänderte Partialdruck h wurde mit der Gefäßkonstanten für CO₂ multipliziert (11).

Die Versuchsdauer betrug 60 Min.. Nach jeweils 15 Min. wurde die Partialdruckänderung abgelesen. Die einzelnen Summenwerte entsprachen dem Gesamtverbrauch O₂ bzw. der Gesamtentwicklung CO₂/mm³ Hefesuspension. Das Gasvolumen wurde immer auf 10 000 kleine, bzw. große Hefezellen /mm³ bezogen.

$$x_{\text{Gas}} = \frac{\text{Vol. Gas} \cdot 10\,000 \text{ (fiktive Bezugszellzahl)}}{\text{gemessene Zellzahl}} / \text{mm}^3$$

Wenn die Gesamtzellzahl für den verwendeten 2 ml Versuchsansatz ermittelt werden soll, wodurch ich absolute Werte erhielt, müßten die ermittelten Werte mit $2 \cdot 10^3$ multipliziert werden.

II. 2. Bestimmung der Zellzahl, Sprossung und Vitalität von Hefezellen

Neben Beeinflussung von Atmung und Gärung bei *Saccharomyces cerevisiae* durch Pharmaka wurde untersucht, wie weit die zugesetzten Substanzen in Zellwachstum und Zellvermehrung eingreifen, und ob sie die Zelle so schädigen, daß Zelltod hervorgerufen wird.

a) Zellzählung

Vor und nach jedem Versuch wurde die Anzahl kleiner bzw. großer Hefezellen mit dem Celloscope der Fa. AB LARS LJUNGBERG & Co./ Stockholm, nach den vom Hersteller angegebenen Methoden bestimmt.

b) Zählung der Sprossung

Unter dem Mikroskop wurden bei Versuchsanfang und -ende von jeder Kontroll- und Versuchsgruppe 100 Zellen durchgezählt und der prozentuale Anteil von sprossenden und nichtsprossenden Zellen ermittelt.

c) Bestimmung der Letalität durch Methylenblaufärbung

Durch Zugabe einer 0,1 %igen Methylenblaulösung wurde die Letalität der Hefezelle bestimmt. Ein Tropfen Methylenblau wurde auf zwei Tropfen Hefesuspension gegeben.

Die von uns in Nährsalz gelöste 0,1 %ige Methylenblaukonzentration permeiert nicht in die lebende Zelle. Bei toten Zellen diffundiert Methylenblau durch die Zellmembran und lagert sich in der Zelle ein. Dagegen tritt bei Zellen, die nicht in Salzlösung suspendiert sind, eine Schädigung der Zellmembran und Zellstruktur ein, so daß alle Zellen abgetötet werden und somit 100 % der Zellen angefärbt werden. - Die Anfärbung ist ein sicheres Zeichen für den Tod der Hefezellen (12).

II. 3. Statistische Berechnung

Bei der Auswertung der Versuche mußten zur statistischen Sicherung der Ergebnisse die Mittelwerte der Kontrollgruppen, die Mittelwerte der Versuchsgruppen und die Streuung der Einzelwerte berechnet werden. Ferner wurde die Streuung der Mittelwerte nach der Formel:

$$S_M = \frac{S_E}{\sqrt{n}}$$

bestimmt, wobei n die Anzahl der Meßwerte wiedergibt.

Die Mittelwertsunterschiede wurden im t-Test nach STUDENT auf Signifikanz geprüft.

Die Größe $t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{S_{M_1}^2 + S_{M_2}^2}}$ ist t-verteilt.

Aus der t-Verteilungskurve läßt sich zu jedem t die zugehörige Irrtumswahrscheinlichkeit ALPHA bestimmen (13). Als limitierende Irrtumswahrscheinlichkeit wurde ALPHA = 0,02 (98 %) festgesetzt. Bei Vergleichen Kontrollgruppe gegen Versuchsgruppe wurde die Kontrollgruppe immer gleich 100 % gesetzt.

C. EXPERIMENTELLER TEIL

I. 1. Ermittlung geeigneter Versuchsbedingungen

a) Konzentration der Hefesuspension

Bäckerhefe wächst und vermehrt sich bevorzugt in glucose- und biosfaktorenhaltiger Nährlösung unter aeroben Bedingungen. Intensität und zeitlicher Ablauf aller Stoffwechselreaktionen, damit auch Wachstum und Vermehrung, sind von der Konzentration der Nähr- und Wuchsstoffe abhängig. Um optimale Wachstums-, Sprossungs- und Stoffwechselbedingungen für die in meinen Versuchen verwandten kleinen und großen Hefezellen zu finden, wurde eine Anzahl orientierender Versuche durchgeführt.

Bei diesen Versuchsreihen wurden unter Zugabe von 30 mg Glucose pro 2 ml Inkubationsflüssigkeit und Ansatz verschiedene Hefekonzentrationen eingesetzt, 0,1 %, 0,15 %, 0,3 %, 0,5 %, um Abhängigkeit von Zellzahl und Stoffwechsel zu untersuchen. Der Konzentrationsbereich von 0,15 - 0,5 % erwies sich als ungeeignet, da der Gasverbrauch bzw. die Gasproduktion so hoch war, daß der Manometerbereich für die stündliche Messung des Gasanfalls erheblich zu klein war. Darum wurde für alle weiteren Versuche die 0,1 %ige Hefesuspension eingesetzt. Aus dem gleichen Grunde wurde auch die anfängliche Flüssigkeitsmenge von 3 ml auf 2 ml reduziert. Unter diesen Bedingungen ist eine Eigenhemmung der Zellsprossung nicht vorhanden. Außerdem ist die Atmung noch maximal, dagegen tritt Abnahme von Atmung und Sprossung mit zunehmender Zellzahl auf (14).

Als Nährlösung wurde in allen Versuchen die Salzlösung nach WILLIAMSON (7) verwandt:

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0,015 M	3,96 g	
KCl	0,010 M	1,48 g	ad 1 000 ml
MgCl_2	0,0025 M	1,20 g	aqua demst.
CaCl_2	0,0024 M	0,07 g	gelöst

Als Puffer wurde folgender nach WILLIAMSON modifizierter Ansatz verwandt:



4,14 g wurden ad 1 000 ml aqua demst. gelöst. Der pH-Wert lag bei 4,65.

b) Hefetrockenkochsaft- und Hefetrockenperchlorsäureextraktkonzentration

Kochsaft und Perchlorsäureextrakt aus Hefe sind wegen ihres Gehaltes an Biosfaktoren wachstums- und sprossungsfördernd. Beide Zubereitungen lagen als lyophilisierte Trockensubstanz vor. Eine 1 %ige Endkonzentration von Trockenkochsaft und Trockenperchlorsäureextrakt in WILLIAMSON-Nährlösung erwies sich als vollkommen ausreichend in ihren wachstums- und sprossungsfördernden Eigenschaften. Sie entspricht einem Endgehalt von 20 %igem Frischkochsaft. Diese Konzentration wurde eingesetzt, weil vorausgegangene Untersuchungen ergeben hatten, daß sie Wachstum und Sprossung maximal beschleunigte. Folgender Ansatz wurde bei allen weiteren Versuchen benutzt:

Kontrolle:

- 1,8 ml 0,1%ige Hefesuspension in WILLIAMSON + 0,2 ml:
- 30 mg Glucose in 1 ml WILLIAMSON gelöst.

Versuchsgruppe:

- 1,8 ml 0,1%ige Hefesuspension in WILLIAMSON + 0,2 ml:
- 30 mg Glucose + 20 mg KS bzw. 20 mg PCE
- in 1 ml WILLIAMSON gelöst.

Um Glucose, Kochsaft, Perchlorsäureextrakt, verschiedene Pharmaka und Hefe in Nährsalz zu lösen und in die einzelnen Reaktionsgefäße einzupipettieren, benötigte ich etwa 15 Min.. Nach dem Einbringen in die Warburgapparatur wurden die Gefäße 15 Min. zum Temperatúrausgleich (24°C) geschüttelt. Die Ablesung er-

folgte viertelstündlich. Die Versuchsdauer betrug 1 Std.

c) Herstellung von Istizin- und Cignolinlösungen

Die oben genannte Versuchsanordnung blieb für alle Testreihen bestehen, veränderte sich nur durch die Zugabe der in den weiteren Versuchen eingesetzten Pharmaka: Phenol, Istizin, Cignolin und Chloramphenicol.

Istizin und Cignolin sind sehr schwer wasserlöslich, daher wurde eine kaltgesättigte Lösung mit Bodenkörper eingesetzt. Zur Unterscheidung von dieser wurde eine kaltgesättigte Lösung hergestellt. Hierzu wurden die chemisch-reinen Stoffe im Überschuß mit Nährsalzlösung intensiv geschüttelt. Der Bodenkörper wurde nach 24 Std. Stehenlassens durch Filtrieren abgetrennt. Die so erhaltene Istizin- bzw. Cignolinkonzentration wurde mit dem Wert 100 % bezeichnet. Durch weiteres Potenzieren mit Nährsalzlösung wurden die einzelnen Versuchskonzentrationen hergestellt, 33 %, 10 %, 3,3 %, 1 %.

I. 2. Beeinflussung des Stoffwechsels kleiner und großer Hefezellen durch Trockenkochsaft und Perchlorsäureextrakt

a) Stoffwechsel

Bei kleinen Hefezellen wird durch Zusatz von 1 %igem Kochsaft der Atmungsstundenwert um 45 % erhöht, der für die Gärung um 12 %. Bei großen Hefezellen steigerte sich der O_2 -Verbrauch gegenüber der Kontrollgruppe um 32 %, die CO_2 -Bildung ebenfalls um 32 % (s. Tab. 1).

Es bestehen also in reiner glucosehaltiger Salzlösung zwischen kleinen und großen Zellen deutliche Unterschiede an Atmung und Gärung. Bei großen Zellen ist die Atmung pro Zelle etwa zweieinhalb mal größer als bei kleinen Zellen. Die entsprechende Differenz an der Gärung ist etwas kleiner und liegt etwa bei dem Verhältnis 2 : 1.

Perchlorsäuretrockenextrakt wirkt bei 1 %iger Endkonzentration in gleicher Richtung wie der Hefetrockenkochsaft. Insgesamt ist aber seine Wirkung, sowohl an kleinen wie an großen Zellen, etwas, aber immerhin signifikant schwächer. Wenn man nämlich

von den Trockenextraktkonzentrationen auf die Hefeausgangskonzentration umrechnet, so entspricht eine 1 %ige Trockenkochsaftlösung 20 %iger Frischhefe, dagegen eine 1 %ige Trockenperchlorsäureextraktlösung nur einer 10 %igen Frischhefe. Ob allerdings trotz der Signifikanz der Differenz die Unterschiede zwischen beiden Extrakten real sind, erscheint zweifelhaft, da orientierende Versuche ergeben haben, daß im Bereich von 0,25 - 2 %igem Trockenextraktzusatz keine Dosenwirkungsbeziehungen vorhanden sind (s. Tab. 2).

b) Sprossung

Bei kleinen Zellen stieg die Sprossung nach 60 Min. im Durchschnitt folgendermaßen an:

	KO	KS	PCE
Beginn	0 %	0 %	0 %
Ende	1 %	5 %	1 %

Bei großen Zellen erhöhte sich die Sprossung:

	KO	KS	PCE
Beginn	0 %	0 %	0 %
Ende	40 %	90 %	80 %

c) Anfärbbbarkeit

Wie aus dem Ausbleiben von angefärbten Zellen zu schließen ist, wurden in dieser Versuchsreihe keine Zellen geschädigt.

Tabelle 1: Vergleichende Untersuchungen von 1 %igem KS und 1 %igem PCE

KLEINE ZELLEN

	Mittelwert		GAER/ATM	Streuung		Abweichung in %	
	Atmung	Gärung		Atmung	Gärung	Atmung	Gärung
KO	21,80	39,10	1,8	2,700	3,510	-	-
KS	31,60	43,80	1,37	1,578	5,029	+ 45	+ 12
PCE	29,10	40,40	1,37	1,595	4,766	+ 33	+ 4

GROSSE ZELLEN

	Mittelwert		GAER/ATM	Streuung		Abweichung in %	
	Atmung	Gärung		Atmung	Gärung	Atmung	Gärung
KO	49,50	82,10	1,66	3,749	8,075	-	-
KS	65,30	108,10	1,66	7,704	8,621	+ 32	+ 32
PCE	60,10	94,60	1,60	8,439	5,481	+ 21	+ 15

Tabelle 2: Vergleichende Untersuchungen von 1 %igem KS und 1 %igem PCE

SIGNIFIKANZPRÜFUNGEN

Kleine Zellen

Atmung	Vergleich	KO gegen KS	T = 9,9107	Alpha	0,0001 ⁺
"	"	KO "	T = 7,3616	Alpha	0,0001 ⁺
"	"	KS "	T = 3,5238	Alpha =	0,0024 ⁺
Gärung	"	KO "	T = 2,4235	Alpha =	0,0261 ⁺
"	"	KO "	T = 0,6945	Alpha =	0,4962
"	"	KS "	T = 1,5519	Alpha =	0,1381

Große Zellen

Atmung	Vergleich	KO gegen KS	T = 5,8319	Alpha	0,0001 ⁺
"	"	KO "	T = 3,6301	Alpha =	0,0029 ⁺
"	"	KS "	T = 1,4391	Alpha =	0,1672
Gärung	"	KO "	T = 6,9604	Alpha	0,0001 ⁺
"	"	KO "	T = 4,0501	Alpha =	0,0007 ⁺
"	"	KS "	T = 4,1788	Alpha =	0,0005 ⁺

II. Die Wirkung von Phenol auf Stoffwechsel, Sprossung und Anfärbbarkeit

Seit LISTER (1867) wird Phenol zur antiseptischen Wundbehandlung verwandt. In der Chirurgie und Zahnheilkunde ist die Chlumsky'sche Lösung - 40 % Phenol, 60 % Kampfer - besonders gebräuchlich. Sie wirkt nicht mehr ätzend, sondern nur noch bakteriostatisch. Phenol und Kampfer gehen nach ihrem Verteilungsquotienten Öl/Wasser in die wässrige Phase über, wobei nur eine niedrige Phenolkonzentration in der wässrigen Lösung entsteht. Diese wirkt bakteriostatisch, aber nicht mehr zellschädigend. Wegen seiner protrahierten Wirkung verwendet man Solutio Chlumsky als Depotantiseptikum.

Phenol ist lipoid- und wasserlöslich, farblos und bildet charakteristisch riechende Kristalle. Es schädigt Bakterien und lebende Zellen als sogenanntes Protoplasmagift. Wirksame und unwirksame Konzentration liegen dicht beisammen.

Die bakterizide Wirkung von Phenol läßt sich auf seine gute Löslichkeit und Oberflächenaktivität zurückführen. An der Zelloberfläche wird Phenol adsorptiv gebunden. Es löst sich außerdem in den Lipoiden der Zellmembran. Von dort diffundiert es in das Zellinnere, wo es zu Schädigungen führt (15).

Man vermutet, daß es zu einer Reaktion der sauren, phenolischen Hydroxylgruppen mit den basischen Gruppen der Eiweiße kommt. Die Eiweißbindung ist locker. Besonders wirksam ist Phenol bei Vorhandensein von Sauerstoff. Die zellschädigende Wirkung kommt wahrscheinlich den chinoiden Oxydationsprodukten des Phenols zu, die als Fermentgifte angesehen werden.

II. 1. Kleine Zellen

a) Stoffwechsel

Bei kleinen Zellen sinkt der Sauerstoffverbrauch bei verschiedenen Phenolkonzentrationen gegenüber den Kontrollwerten wie folgt:

Bei 0,05 %iger Phenolkonz. betr. d. Abw.	- 2,4 %
" 0,1 %iger " " " "	-16,9 %
" 0,2 %iger " " " "	-30,0 %
" 0,4 %iger " " " "	-78,2 %
" 0,8 %iger " " " "	-100,0%

Bei höheren Phenoldosen kommt es also zur Aufhebung der Atmung (s. Tab. 3).

Die CO₂-Bildung sinkt nach 1 Std. Versuchsdauer ebenfalls stark ab. Der Abfall gegenüber den Kontrollwerten beträgt bei:

0,05 %iger Phenolkonzentration	- 6,8 %
0,1 %iger "	-10,1 %
0,2 %iger "	-16,4 %
0,4 %iger "	-47,5 %
0,8 %iger "	-60,8 %

(s. Tab. 3)

Während die Atmung bei 0,8 %iger Phenolkonzentration völlig erlischt, bilden kleine Zellen noch 39,2 % CO₂. Bei der 0,2 %igen Konzentration liegt bei Atmung und Gärung der größte Stoffwechselabfall. (s. Abb. 1)

b) Sprossung

Nach einer Stunde findet bei kleinen Zellen keine Sprossung statt, da die zur Sprossung erforderliche Zellgröße noch nicht erreicht ist. - Das gilt für kleine Zellen bei allen weiteren Versuchen.

c) Anfärbbbarkeit

Je höher die Phenolkonzentration liegt, desto mehr Zellen werden geschädigt. Nach 1 Std. entspricht die Letalität bei einer:

0,05 %igen Phenolkonzentration	1 %	angefärbte Zellen
0,1 %igen "	2 %	" "
0,2 %igen "	3 %	" "
0,4 %igen "	35 %	" "
0,8 %igen "	90 %	" "

(s. Abb. 2)

II. 2. Große Zellen

a) Stoffwechsel

Bei großen Zellen sinkt der O_2 -Verbrauch nach 1 Std. folgendermaßen gegen die Kontrollwerte ab:

Bei 0,05 %iger Phenolkonz. betr. d. Abw.	- 5,3 %
" 0,1 %iger " " "	-14,9 %
" 0,2 %iger " " "	-37,8 %
" 0,4 %iger " " "	-58,9 %
" 0,8 %iger " " "	-94,6 %

Die entsprechenden Werte für die Gärung betragen:

Bei 0,05 %iger Phenolkonz.	betr. d. Abw.	- 7,7 %
" 0,1 %iger	" " "	-16,3 %
" 0,2 %iger	" " "	-25,5 %
" 0,4 %iger	" " "	-49,7 %
" 0,8 %iger	" " "	-66,4 %

(s. Tab. 4)

b) Sprossung

Die Sprossung der großen Zellen beträgt bei der Kontrolle 50 %, bei Phenolzugabe nach 1 Std. Versuchsdauer:

Bei 0,05 %iger	Phenolkonzentration	50 %
" 0,1 %iger	"	10 %
" 0,2 %iger	"	10 %
" 0,4 %iger	"	8 %
" 0,8 %iger	"	0 %

(s. Abb. 2)

Mit zunehmender Konzentration nimmt die Sprossungsfähigkeit der großen Hefezellen ab und erlischt bei 0,8 % Phenolkonzentration ganz.

c) Anfärbbbarkeit

Ähnlich wie bei kleinen Zellen steigt bei großen Hefezellen die Letalität mit steigender Phenolkonzentration an. Sie beträgt:

Bei 0,05 %iger Phenolkonzentration 2 % angefärbte Zellen				
" 0,1 %iger	"	10 %	"	"
" 0,2 %iger	"	40 %	"	"
" 0,4 %iger	"	60 %	"	"
" 0,8 %iger	"	90 %	"	"

(s. Abb. 2)

Nach den erhaltenen Ergebnissen läßt sich die Wirkung von Phenol nach folgenden Gesichtspunkten differenzieren:

Am empfindlichsten spricht die Sprossung an. Die hemmende Grenzkonzentration liegt bei 0,1 %, bei welcher die Sprossung beinahe völlig gehemmt ist. Davon abzutrennen ist die zellabtötende Wirkung. Sie beginnt bei großen Zellen bei 0,2 % Phenolkonzentration, bei kleinen Zellen erst bei 0,4 %.

Unter den gemessenen Stoffwechselgrößen bestehen deutliche Unterschiede, sowohl hinsichtlich der Beeinflussung von Atmung und Gärung, als auch hinsichtlich kleiner und großer Zellen. Die Gärung großer Zellen scheint besonders empfindlich auf Phenol anzusprechen und wird schon durch 0,1 % eben signifikant gehemmt. Bei kleinen Zellen setzt die Gärungshemmung erst ab 0,2 % Phenol ein. - Die Atmung der beiden Zellgruppen ist offenbar gleich empfindlich gegen Phenol, ihre Hemmung beginnt bei 0,2 %. Gemessen an der Sprossungshemmung und Letalität ist bei Phenol ein schmaler cyto-statischer = sprossungshemmender Bereich zu finden, der mit einer eben nachweisbaren Herabsetzung der aeroben Gärung einhergeht. Bei höheren Phenolkonzentrationen geht vor allem bei der Atmung die Hemmung weitgehend konform mit der prozentualen Letalität.

*Wirkung verschiedener Phenolkonzentrationen auf Atmung und Gärung
kleiner und großer Hefezellen.*

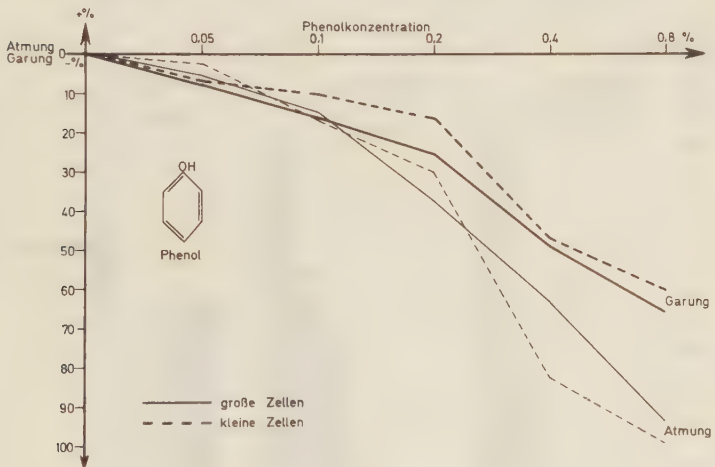


Abb. 1

***Beeinflussung von Vitalität und Sprossung
kleiner und großer Hefezellen durch verschiedene Phenolkonzentrationen.***

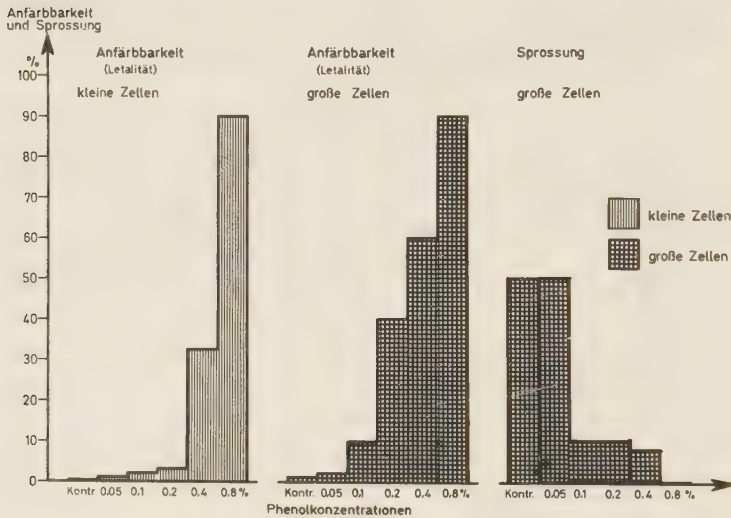


Abb. 2

Tabelle 3: Mittelwerte und Vergleiche zwischen Kontroll- und Versuchsgruppen
bei kleinen Hefezellen

		Kontrollgruppe			Versuchsgruppe			$\bar{C}$	$\bar{x}$	Abw. VG. u. KG. %	ALPHA
	Konz. %	N	$\bar{x}$	N	$\bar{x}$	N					
Phenol	ATM	0,05	3	23,33	9	22,78	4,8	-	2,4	0,79	
Phenol	ATM	0,1	3	21,00	9	17,44	6,5	-	16,9	0,22 ⁺	
Phenol	ATM	0,2	3	23,33	9	16,33	3,6	-	30,0	0,01 ⁺	
Phenol	ATM	0,4	3	26,00	9	5,67	1,9	-	78,2	0,001 ⁺	
Phenol	ATM	0,8	2	30,50	4	0,00	0,0	-	100,0	0,001 ⁺	
Phenol	GAER	0,05	3	43,00	9	40,11	2,7	-	6,8	0,27	
Phenol	GAER	0,1	3	33,00	9	29,67	3,0	-	10,1	0,09	
Phenol	GAER	0,2	3	34,67	9	29,00	2,6	-	16,4	0,01 ⁺	
Phenol	GAER	0,4	3	37,67	9	19,78	2,3	-	47,5	0,001 ⁺	
Phenol	GAER	0,8	2	32,50	4	12,75	2,6	-	60,8	0,001 ⁺	

Tabelle 4: Mittelwerte und Vergleiche zwischen Kontroll- und Versuchsgruppen
bei großen Hefezellen

		Kontrollgruppe			Versuchsgruppe			$\bar{C}, \bar{x}$	Abw. VG. u. KG. %	ALPHA
	Konz. %	N	$\bar{x}$	N	$\bar{x}$					
Phenol	ATM	0,05	3	64,00	9	60,67	5,6	- 5,3	0,64	
Phenol	ATM	0,1	3	51,00	9	43,44	4,0	-14,9	0,07	
Phenol	ATM	0,2	3	53,33	9	33,22	5,5	-37,8	0,001 ⁺	
Phenol	ATM	0,4	3	59,33	9	24,44	4,6	-58,9	0,001 ⁺	
Phenol	ATM	0,8	2	55,00	4	3,00	3,1	-94,6	0,001 ⁺	
Phenol	GAER	0,05	3	104,00	9'	96,00	1,9	- 7,7	0,08	
Phenol	GAER	0,1	3	76,00	9	63,67	2,0	-16,3	0,001 ⁺	
Phenol	GAER	0,2	3	85,67	9	63,89	2,2	-25,5	0,001 ⁺	
Phenol	GAER	0,4	3	103,33	8	52,00	3,0	-49,7	0,001 ⁺	
Phenol	GAER	0,8	2	90,00	4	30,25	5,2	-66,4	0,001 ⁺	

Tabelle 5: Signifikanzprüfungen der Differenzen der mm^3 -Werte von Atmung und Gärung
bei Vergleich von kleinen und großen Hefezellen bei verschiedenen
Phenolkonzentrationen

Konz.in%	Kontrollgruppe		Versuchsgruppe		
	ATM α	GAER α	ATM α	GAER α	
0,05	0,001 ⁺	0,001 ⁺	0,001 ⁺	0,001 ⁺	keine Phenolwirkung
0,1	0,001 ⁺	0,001 ⁺	0,001 ⁺	0,001 ⁺	
0,2	0,001 ⁺	0,001 ⁺	0,001 ⁺	0,001 ⁺	Bereich der Hemm- wirkung von Phenol
0,4	0,001 ⁺	0,001 ⁺	0,001 ⁺	0,001 ⁺	
0,8	0,06	0,03	0,19	0,03	

III. Die Wirkung von 1,8-Dioxyanthrachinon (Istizin^R) auf Stoffwechsel, Sprossung und Anfärbbarkeit

Istizin^R, 1,8-Dioxyanthrachinon, wird als dickdarmanregendes Abführmittel gebraucht.

Nach Untersuchungen von SCHMID (16) und IPPEN (17) wird es im Dickdarm durch die Darmbakterien bis zu 20 % einer Dosis zu 1,8-Dioxyanthranol (Cignolin^R), reduziert. Dieses Reduktionsprodukt ist als die Wirkform des Istizins anzusehen. In Versuchen des Instituts hatte OTT (18) gefunden, daß Istizin auch durch Bäckerhefezellen und durch Monilien, vor allem unter anaeroben Bedingungen, reduziert werden kann.

Aus diesem Grunde wurde untersucht, ob sich Istizinwirkungen an Atmung und Gärung von Hefezellen nachweisen lassen.

III. 1. Kleine Zellen

a) Stoffwechsel

Bei den unten angeführten Istizinkonzentrationen ergaben sich für die Atmung nach 1 Std. nur unerhebliche, nicht signifikante Abweichungen von der Kontrolle. Bei:

Istizinlsg. m. Bodenkörper betr. d. Abw.	- 6,3 %
100 %iger Istizinkonz.	" " " -10,0 %
33 %iger "	" " " -13,0 %
10 %iger "	" " " - 9,9 %
3,3 %iger "	" " " - 3,5 %
1 %iger "	" " " -14,9 %

(s. Tab. 6)

Auch die CO₂-Bildung weicht nach 1 Std. Versuchsdauer gegenüber den Kontrollwerten nicht signifikant ab. Bei:

Istizinslsg. m. Bodenkörper betr. d. Abw.	+ 2,4 %
100 %iger Istizinkonz.	" " " - 8,8 %
33 %iger "	" " " + 0,7 %
10 %iger "	" " " + 5,0 %
3,3 %iger "	" " " +22,5 %
1 %iger "	" " " + 3,5 %

(s. Tab. 6)

b) Sprossung

Bei kleinen Zellen fand keine Sprossung statt.

c) Anfärbbbarkeit

Der Prozentsatz der angefärbten Zellen war nicht höher als bei der Kontrolle. Die Zellen wurden also nicht geschädigt.

III. 2. Große Zellen

a) Stoffwechsel

Nach 1 Std. Versuchsdauer weicht der O_2 -Verbrauch folgendermaßen von den Kontrollwerten ab. Bei:

Istizinslg. m. Bodenkörper betr. d. Abw.	- 4,2 %
100 %iger Istizinkonz. " " "	- 6,9 %
33 %iger " " " "	+36,8 %
10 %iger " " " "	- 7,7 %
3,3 %iger " " " "	+ 9,4 %
1 %iger " " " "	+10,0 %

(s. Tab. 7)

Die CO_2 -Produktion zeigt nach 1 Stunde folgende Veränderungen gegenüber den Kontrollwerten. Bei:

Istizinslg. m. Bodenkörper betr. d. Abw.	+ 7,4 %
100 %iger Istizinkonz. " " "	- 6,3 %
33 %iger " " " "	+42,9 %
10 %iger " " " "	+ 4,6 %
3,3 %iger " " " "	+ 8,7 %
1 %iger " " " "	+11,5 %

(s. Tab. 7)

b) Sprossung

Istizin hemmt bis zur 30fachen Verdünnung der gesättigten Lösung die Zellvermehrung um 30 - 50 %. Niedere Istizinkonzentrationen sind auf die Sprossung unwirksam (s. Abb. 4).

c) Anfärbbbarkeit

Bei Istizinzugabe liegt die Zelletalität zwischen 1 und 3 % durchaus im normalen Bereich. Es wirkt sich auf die Lebensfähigkeit der Zelle nicht schädigend aus. (s. Abb. 4)

**Beeinflussung von Vitalität und Sprossung
großer Hefezellen durch verschiedene Istizinkkonzentrationen.**

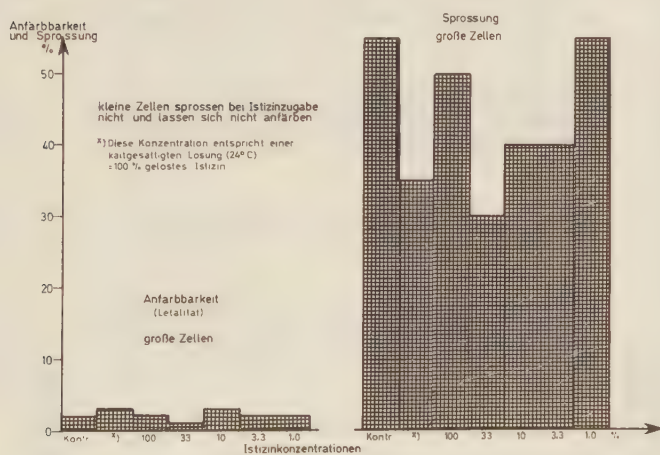


Abb. 4

x = Istizinlösung mit Bodenkörper

Tabelle 6: Mittelwerte und Vergleiche zwischen Kontroll- und Versuchsgruppen
bei kleinen Hefezellen

		Kontrollgruppe		Versuchsgruppe		$\bar{c}$	Abw. VG. u. KG. %	ALPHA
		Konz. %	$\bar{x}$	N	$\bar{x}$			
Istizin	ATM	x	21,33	9	20,00	4,5	- 6,3	0,50
Istizin	ATM	100	27,75	8	25,00	4,8	-10,0	0,21
Istizin	ATM	33	31,75	8	27,38	4,1	-13,0	0,06
Istizin	ATM	10	22,75	8	20,50	4,1	- 9,9	0,17
Istizin	ATM	3,3	21,75	8	21,00	2,8	- 3,5	0,45
Istizin	ATM	1	18,50	4	15,75	4,0	-14,9	0,71
Istizin	GAER	x	31,67	9	32,44	4,3	+ 2,4	0,79
Istizin	GAER	100	31,50	8	28,75	8,2	- 8,8	0,50
Istizin	GAER	33	32,50	8	32,75	2,3	+ 0,7	0,85
Istizin	GAER	10	27,25	8	28,63	0,0	+ 5,0	0,36
Istizin	GAER	3,3	27,75	8	34,00	6,7	+22,5	0,07
Istizin	GAER	1	42,50	4	44,00	6,2	+ 3,5	0,76

x = Istizininlösung mit Bodenkörper

Tabelle 7: Mittelwerte und Vergleiche zwischen Kontroll- und Versuchsgruppen bei großen Hefezellen

		Kontrollgruppe		Versuchsgruppe		$\bar{e}$	$\bar{x}$	Abw.VG.u.KG. %	ALPHA
	Konz. %	N	$\bar{x}$	N	$\bar{x}$				
Istizin	ATM	x	4	66,50	8	63,75	5,2	- 4,2	0,62
Istizin	ATM	100	4	69,00	8	64,25	4,4	- 6,9	0,32
Istizin	ATM	33	4	70,50	8	96,50	4,2	+36,8	0,001 ⁺
Istizin	ATM	10	4	82,00	8	75,75	7,9	- 7,7	0,53
Istizin	ATM	3,3	4	55,50	8	60,75	14,6	+ 9,4	0,69
Istizin	ATM	1	4	55,00	8	60,50	6,8	+10,0	0,39
Istizin	GAER	x	4	90,50	8	97,25	2,2	+ 7,4	0,06
Istizin	GAER	100	4	96,00	8	90,00	2,5	- 6,3	0,15
Istizin	GAER	33	4	88,50	8	126,50	5,1	+42,9	0,001 ⁺
Istizin	GAER	10	4	81,00	8	84,75	3,4	+ 4,6	0,45
Istizin	GAER	3,3	4	91,50	8	99,50	7,0	+ 8,7	0,50
Istizin	GAER	1	4	101,50	8	113,25	3,0	+11,5	0,05

x = Istizininlösung mit Bodenkörper

Tabelle 8: Signifikanzprüfungen der Differenzen der mm³-Werte von Atmung und Gärung
bei Vergleich von kleinen und großen Hefezellen bei verschiedenen
Istizin-Konzentrationen

Konz. in %	Kontrollgruppe		Versuchsgruppe	
	ATM α	GAER α	ATM α	GAER α
x	0,001 ⁺	0,001 ⁺	0,001 ⁺	0,001 ⁺
100	0,001 ⁺	0,001 ⁺	0,001 ⁺	0,001 ⁺
33	0,001 ⁺	0,001 ⁺	0,001 ⁺	0,001 ⁺
10	0,001 ⁺	0,001 ⁺	0,001 ⁺	0,001 ⁺
3,3	0,001 ⁺	0,001 ⁺	0,001 ⁺	0,001 ⁺
1	0,043	0,001 ⁺	0,009 ⁺	0,001 ⁺

x = Istizinlösung mit Bodenkörper

IV. Die Wirkung von 1,8-Dioxyanthranol (Cignolin^R),
auf Stoffwechsel, Sprossung und Anfärbbarkeit

Cignolin^R, 1,8-Dioxyanthranol, ist neben Chrysarobin in der Dermatologie als starkes Hyperämisierungsmittel mit Langzeitwirkung, vor allem bei der Behandlung der Psoriasis, in Gebrauch. Es wirkt außerdem hemmend auf die Vermehrung von Hautpilzen. Nach Versuchen des Instituts wirkt Cignolin ebenfalls hemmend auf die Sprossung von Hefearten.

Neuerdings wurde von BERGER (19) auch eine Hemmwirkung am EHRLICH'schen Mäuse-Ascites-Tumor beobachtet. Außerdem soll Cignolin an Hefe eine mutagene Wirkung besitzen. (20) In unseren Untersuchungen sollte geprüft werden, ob Cignolin Stoffwechsel, Wachstum und Vermehrung von kleinen und großen Hefezellen hemmend beeinflusst.

IV. 1. Kleine Zellen

a) Stoffwechsel

Der O₂-Verbrauch weicht bei Cignolinzugabe nach 1 Std. Versuchsdauer folgendermaßen von den Kontrollwerten ab. Bei:

Cignolinlsg. m. Bodenkörper betr. d. Abw.					- 41,9 %
100 %iger	Cignolinkonz.	"	"	"	+ 49,4 %
33 %iger	"	"	"	"	+ 48,1 %
10 %iger	"	"	"	"	+ 10,9 %
3,3 %iger	"	"	"	"	- 3,0 %
1 %iger	"	"	"	"	+ 9,8 %

(s. Tab. 9)

Die CO₂-Bildung weicht wie folgt von den Kontrollwerten ab. Bei:

Cignolinlsg. m. Bodenkörper betr. d. Abw.					+ 82,7 %
100 %iger	Cignolinkonz.	"	"	"	+ 44,9 %
33 %iger	"	"	"	"	+ 39,0 %
10 %iger	"	"	"	"	- 3,0 %
3,3 %iger	"	"	"	"	+ 16,2 %
1 %iger	"	"	"	"	+ 5,7 %

(s. Tab. 9)

c) Anfärbbbarkeit

Nach 1 Std. Versuchsdauer liegt die Letalität großer Hefezellen zwischen 2 und 4 %. Cignolin wirkt also fungistatisch, aber nicht fungizid.

Nach den gewonnenen Ergebnissen bestätigt sich die starke fungistatische Wirkung des 1,8-Dioxyanthranols. Eine zellabtötende Wirkung war weder bei kleinen noch bei großen Zellen nachzuweisen. Eindeutige Veränderungen waren bei beiden Zellarten an Atmung und Gärung ausgeprägt, wobei einige Unterschiede zwischen großen und kleinen Zellen ins Auge fallen. (s. Abb. 5) Die gesättigte Lösung mit Bodenkörper erzeugte bei beiden Zellarten eine starke Hemmung der Atmung mit gleichzeitiger Erhöhung der Gärung. Eine einfach gesättigte Lösung und ihre Verdünnungen hatte bei großen Zellen keine eindeutige Wirkung mehr. An kleinen Zellen fand sich dagegen bei der einfach gesättigten Lösung und ihrer dreifachen Verdünnung eine signifikante Steigerung von Atmung und Gärung. Insgesamt ergibt sich aus diesen Daten, daß der fungistatische Effekt sich weder an Atmungs- noch an Gärungswerten ausdrückt, wie das auch schon bei Phenol und Istizin der Fall war.

Wirkung verschiedener Cignolinkonzentrationen auf Atmung und Gärung
kleiner und großer Hefezellen.

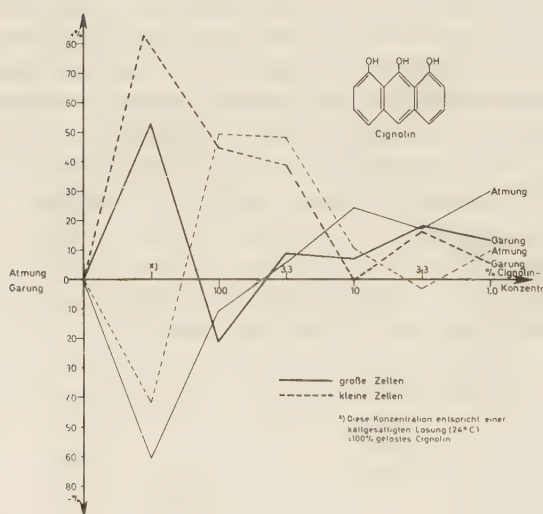


Abb. 5

x = Cignolinlösung mit Bodenkörper

*Beeinflussung von Vitalität und Sprossung
kleiner und großer Hefezellen durch verschiedene Cignolinkonzentrationen.*

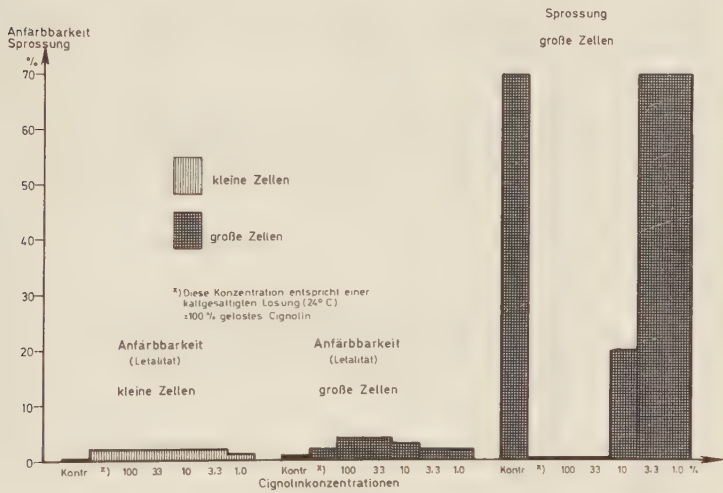


Abb. 6

x = Cignolinlösung mit Bodenkörper

Tabelle 9: Mittelwerte und Vergleiche zwischen Kontroll- und Versuchsgruppen
bei kleinen Hefezellen

		Kontrollgruppe		Versuchsgruppe		$\bar{C}$	$\bar{x}$	Abw. VG. u. KG. %	ALPHA
	Konz. %	N	$\bar{x}$	N	$\bar{x}$				
Cignolin	ATM	x	3	17,00	9	9,89	7,5	- 41,9	0,01 ⁺
Cignolin	ATM	100	3	33,67	9	50,33	3,0	+ 49,4	0,001 ⁺
Cignolin	ATM	33	3	21,00	9	31,11	12,0	+ 48,1	0,05
Cignolin	ATM	10	3	28,33	9	31,44	5,9	+ 10,9	0,33
Cignolin	ATM	3,3	3	22,67	9	22,00	10,5	- 3,0	0,88
Cignolin	ATM	1	2	25,50	4	28,00	3,9	+ 9,8	0,29
Cignolin	GAER	x	3	37,33	9	68,22	4,2	+ 82,7	0,001 ⁺
Cignolin	GAER	100	3	40,33	9	58,44	3,5	+ 44,9	0,001 ⁺
Cignolin	GAER	33	3	35,33	9	49,11	8,5	+ 39,0	0,03
Cignolin	GAER	10	3	43,33	9	43,22	3,9	- 0,3	0,97
Cignolin	GAER	3,3	3	37,00	9	43,00	5,8	+ 16,2	0,17
Cignolin	GAER	1	2	48,00	4	50,75	3,1	+ 5,7	0,26

x Cignolinlösung mit Bodenkörper

Tabelle 10: Mittelwerte und Vergleiche zwischen Kontroll- und Versuchsgruppen bei großen Hefezellen

		Kontrollgruppe		Versuchsgruppe		σ	$\bar{x}$	Abw. VG. u. KG. %	ALPHA
	Konz. %	N	$\bar{x}$	N	$\bar{x}$				
ATM	x	3	45,33	9	17,78	7,3	- 60,8	< 0,001 ⁺	
ATM	100	3	57,00	9	51,00	5,2	- 10,6	0,32	
ATM	33	3	66,67	9	70,67	7,0	+ 5,9	0,73	
ATM	10	3	60,00	9	74,67	5,1	+ 24,4	0,02	
ATM	3,3	4	65,50	8	76,75	4,6	+ 17,1	0,04	
ATM	1	2	57,00	4	74,00	6,2	+ 29,8	0,04	
GAER	x	3	103,00	9	157,22	3,4	+ 52,6	< 0,001 ⁺	
GAER	100	3	141,00	9	111,11	2,2	- 21,2	0,01 ⁺	
GAER	33	3	152,00	9	165,56	3,0	+ 8,9	0,21	
GAER	10	3	130,00	9	139,11	3,0	+ 7,0	0,23	
GAER	3,3	4	96,50	8	113,50	3,1	+ 17,6	0,01 ⁺	
GAER	1	2	122,00	4	138,50	3,6	+ 13,5	0,27	

x = Cignolinlösung mit Bodenkörper

Tabelle 11: Signifikanzprüfungen der Differenzen der mm^3 -Werte von Atmung und Gärung bei Vergleich von kleinen und großen Hefezellen bei verschiedenen Cignolin-Konzentrationen

Konz. in %	Kontrollgruppe		Versuchsgruppe	
	ATM α	GAER α	ATM α	GAER α
x	0,004 ⁺	0,001 ⁺	0,005 ⁺	0,001 ⁺
100	0,005 ⁺	0,002 ⁺	0,840	0,001 ⁺
33	0,044	0,001 ⁺	0,001 ⁺	0,001 ⁺
10	0,001 ⁺	0,001 ⁺	0,001 ⁺	0,001 ⁺
3,3	0,001 ⁺	0,001 ⁺	0,001 ⁺	0,001 ⁺
1	0,036	0,085	0,001 ⁺	0,001 ⁺

x = Cignolinlösung mit Bodenkörper

V. Die Wirkung von Chloramphenicol auf Stoffwechsel, Sprossung und Anfärbbarkeit

Das Antibiotikum Chloramphenicol wurde von EHRLICH und BARTZ (1947) entdeckt. REBSTOCK gelang 1949 die synthetische Herstellung. Im großtechnischen Maßstab wird es teils durch Biosynthese (*Streptomyces*-Arten) teils vollsynthetisch erzeugt. Die aromatische Nitrogruppe gilt als verantwortlich für die bakterio-
statische Wirkung des Chloramphenicols. Diese beruht auf einer Hemmung der Proteinsynthese in den betroffenen Erregern (21).

Nach HARBERS (22) stört Chloramphenicol die Anlagerung der Messenger-RNS an die Ribosomen und blockiert dadurch die Proteinsynthese bei den Mikroorganismen. Wahrscheinlich greift das Chloramphenicol in den Anlagerungsvorgang von Transfer-RNS an die Ribosomen ein. Gleichzeitig kommt es zu einer RNS-Anreicherung in den Zellen.

Hefen gehören im allgemeinen nicht in das von Chloramphenicol betroffene Wirkungsspektrum. In vorausgegangenen Untersuchungen war aber häufig eine Hemmung der Sprossung beobachtet worden. Deshalb interessierte in den von mir durchgeführten Versuchen die Chloramphenicolwirkung auf den Stoffwechsel von kleinen und großen Hefezellen.

V. 1. Kleine Zellen

a) Stoffwechsel

Der O_2 -Verbrauch weicht bei Chloramphenicolkonzentrationen kaum von den Kontrollwerten ab. Bei:

0,01 %iger Chloramphenicolkonz.	betr. d. Abw.	+	8,6 %
0,1 %iger	" " "	-	8,7 %
0,3 %iger	" " "	+	5,7 %
1 %iger	" " "	-	3,2 %

(s. Tab. 12)

Die CO_2 -Bildung weicht ebenfalls nur minimal von den Kontrollwerten ab. Bei:

0,01 %iger Chloramphenicolkonz. betr. d. Abw.					+ 0,3 %
0,1 %iger	"	"	"	"	- 3,2 %
0,3 %iger	"	"	"	"	- 7,0 %
1 %iger	"	"	"	"	- 10,0 %

(s. Tab. 12)

b) Sprossung

Bei kleinen Zellen erfolgt keine Sprossung.

c) Anfärbbbarkeit

Bei Chloramphenicolzugaben beträgt die Anfärbbbarkeit 2 %.
Es liegt keine Zellschädigung vor (s. Abb. 8).

V. 2. Große Zellen

a) Stoffwechsel

Der O₂-Verbrauch weicht bei Chloramphenicolkonzentrationen
nur unerheblich von den Kontrollwerten ab. Bei:

0,01 %iger Chloramphenicolkonz. betr. d. Abw.					+ 1,0 %
0,03 %iger	"	"	"	"	- 8,5 %
0,3 %iger	"	"	"	"	- 0,3 %
1 %iger	"	"	"	"	- 3,4 %

(s. Tab. 13)

Wie bei kleinen Zellen steigt die Atmung minimal an und fällt
unerheblich (s. Abb. 7).

Die CO₂-Bildung wird gegenüber den Kontrollwerten nur uner-
heblich und nicht signifikant (s. Tab. 14) gesenkt. Bei:

0,01 %iger Chloramphenicolkonz. betr. d. Abw.					+ 0,9 %
0,03 %iger	"	"	"	"	- 2,0 %
0,3 %iger	"	"	"	"	- 9,9 %
1 %iger	"	"	"	"	- 9,9 %

(s. Tab. 13)

b) Sprossung

Parallel zur Erhöhung der Chloramphenicolkonzentration wird
die Sprossung beträchtlich gehemmt (s. Abb. 8).

c) Anfärbbbarkeit

Nur 3 - 5 % der Hefezellen lassen sich durch Methylenblau anfärben. Die Vitalität der Zellen wird durch Chloramphenicol nicht beeinträchtigt (s. Abb. 8).

Insgesamt wirkt Chloramphenicol nur in sehr geringem Maße auf Stoffwechselreaktionen von Hefe (s. Abb. 7).

Es besitzt an der Hefe in der hohen Konzentration von 1 % eine cytotostatische Wirkung. Die Letalität dagegen wird durch Chloramphenicol nicht erhöht. Der cytotostatische Effekt entspricht auch bei dieser Substanz keiner Veränderung an Atmung und Gärung.

Wirkung verschiedener Chloramphenicolkonzentrationen auf Atmung und Gärung kleiner und großer Hefezellen.

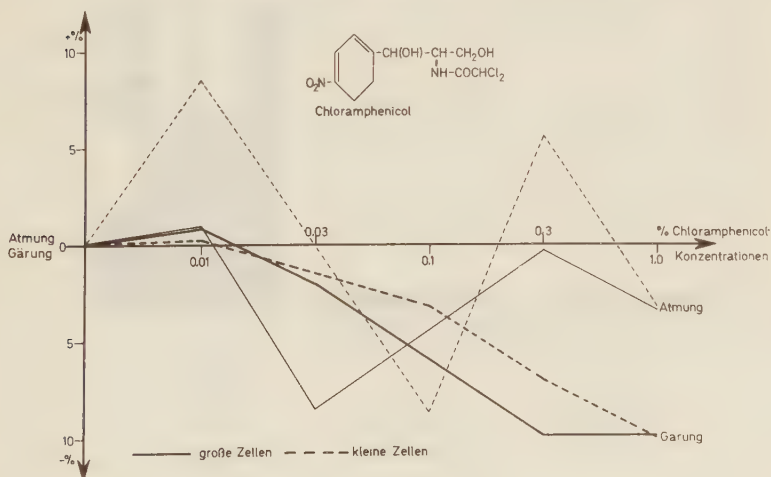


Abb. 7

Beeinflussung von Vitalität und Sprossung
kleiner und großer Hefezellen durch verschiedene Chloramphenicolkonzentrationen.

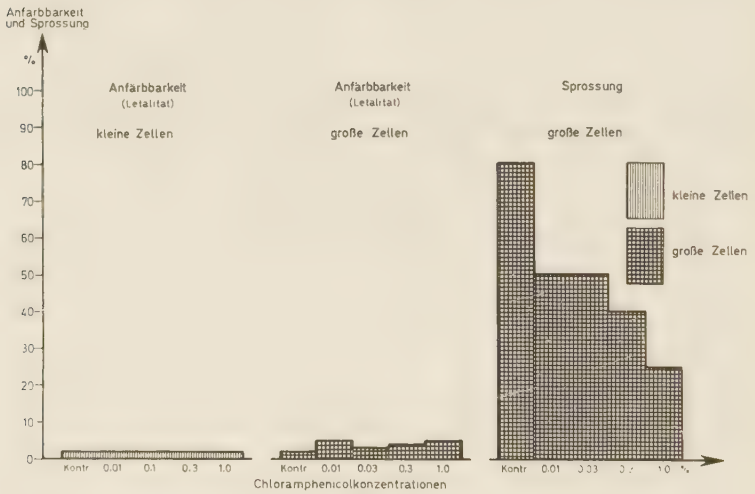


Abb. 8

Tabelle 12: Mittelwerte und Vergleiche zwischen Kontroll- und Versuchsgruppen
bei kleinen Hefezellen

		Kontrollgruppe		Versuchsgruppe		$\bar{x}$	$\bar{s}$	Abw. VG. u. KG. %	ALPHA
		Konz. %	N	$\bar{x}$	N	$\bar{x}$			
Chloramph.	ATM	0,01	3	23,00	9	25,00	2,9	+ 8,6	0,20
Chloramph.	ATM	0,1	3	24,33	9	22,22	3,5	- 8,7	0,26
Chloramph.	ATM	0,3	3	21,33	9	22,56	3,4	+ 5,7	0,42
Chloramph.	ATM	1	3	22,00	9	24,22	4,2	- 3,2	0,69
Chloramph.	GAER	0,01	3	34,33	9	34,44	3,0	+ 0,3	0,96
Chloramph.	GAER	0,1	3	31,67	9	30,67	1,5	- 3,2	0,34
Chloramph.	GAER	0,3	3	33,33	9	31,00	1,8	- 7,0	0,08
Chloramph.	GAER	1	3	30,00	9	27,00	2,3	- 10,0	0,05

Tabelle 13: Mittelwerte und Vergleiche zwischen Kontroll- und Versuchsgruppen bei großen Hefezellen

		Kontrollgruppe		Versuchsgruppe		$\bar{C}$	$\bar{x}$	Abw.VG.u.KG. %	ALPHA
	Konz. %	N	$\bar{x}$	N	$\bar{x}$				
Chloramph.	ATM	3	51,33	9	51,89	4,1		+ 1,0	0,88
Chloramph.	ATM	3	51,00	9	46,67	6,9		- 8,5	0,52
Chloramph.	ATM	3	43,33	9	43,22	5,8		- 0,3	0,98
Chloramph.	ATM	3	56,00	9	54,11	4,5		- 3,4	0,69
Chloramph.	GAER	3	80,00	9	80,78	2,8		+ 0,9	0,86
Chloramph.	GAER	3	81,00	9	79,44	3,3		- 2,0	0,75
Chloramph.	GAER	3	130,00	9	117,22	3,5		- 9,9	0,15
Chloramph.	GAER	3	104,00	9	93,78	2,4		- 9,9	0,05

Tabelle 14: Signifikanzprüfungen der Differenzen der mm^3 -Werte von Atmung und Gärung
bei Vergleich von kleinen und großen Hefezellen bei verschiedenen
Chloramphenicol-Konzentrationen

Konz. in %	Kontrollgruppe		Versuchsgruppe	
	ATM α	GAER α	ATM α	GAER α
0,01	0,001 ⁺	0,001 ⁺	0,001 ⁺	0,001 ⁺
0,03	0,003 ⁺	0,001 ⁺	0,001 ⁺	0,001 ⁺
0,3	0,021	0,001 ⁺	0,001 ⁺	0,001 ⁺
1	0,001 ⁺	0,001 ⁺	0,001 ⁺	0,001 ⁺

D. DISKUSSION

Zur Untersuchung der Frage, ob es bei *Saccharomyces cerevisiae*-Zellen (Bäckerhefe) an Atmung und Gärung kenntliche Stoffwechselreaktionen gibt, die für Zellwachstum und Zellvermehrung charakteristisch sind, erschien die Möglichkeit der Abtrennung von großen (= sprossenden) und kleinen (= wachsenden) Zellen gut geeignet. Beide Vorgänge werden nur durch Zusatz von Biosfaktoren wie sie in Hefeextrakten enthalten sind, in Gang gebracht.

Bei Suspension der Zellen in glukosehaltiger Salzlösung erhält man, zumindest in den ersten Stunden nach Versuchsansatz, Werte, die dem Ruhestadium der Hefezelle entsprechen. Ruhende kleine Zellen (mittlerer Zelldurchmesser etwa 4μ) haben pro Zelle etwa einen halb so großen Stoffwechselumsatz wie große, sprossungsbereite Zellen (mittlerer Zelldurchmesser etwa $5,5\mu$). Dieser Ruheumsatz wird durch Kochsaft und Perchlorsäureextrakt aus Hefezellen in charakteristischer Weise gesteigert. Dabei zeigen sich zwischen wachsenden und sich vermehrenden Zellen deutliche Unterschiede. Bei kleinen Zellen wird lediglich die Atmung um etwa 50 % erhöht, während die Gärung unverändert bleibt. Bei großen Zellen ist die Atmungssteigerung mit etwa 20 - 30 % deutlich geringer als bei kleinen, dafür wird die Gärung um etwa 25 % gesteigert. Auf diese Weise kommt es bei kleinen gegenüber ruhenden Zellen zu einer Erniedrigung des Quotienten Gärung/Atmung, während er bei großen Hefezellen gleich bleibt.

Demnach ist während des Wachstums die Oxydation zu Ungunsten der Gärung verstärkt. Bei der Zellsprossung dagegen werden beide Stoffwechselanteile erhöht.

Die gute Trennbarkeit in wachsende und sprossbereite Hefezellen ergibt eine brauchbare Grundlage für die Prüfung der Empfindlichkeit beider Stadien gegenüber Desinfizienzien. Phenol wurde gewählt, weil ein weiterer Zweck der Untersuchung war, ob die Stoffwechselwirkung des Phenols in gleicher Weise abläuft, wie die der sogenannten Polyphenole, zu denen das Istizin und das Cignolin gehören.

Wie schon früher gefunden, gibt es bei Phenol einen schmalen Konzentrationsbereich, bei dem eine Hemmung von Atmung und Gärung, allerdings in geringem Umfang, vorhanden ist und bei welchem gleichzeitig eine Sprossungshemmung eintritt.

In den eigenen Versuchen konnte hier weiter differenziert werden. - Zunächst zeigte sich, daß gegenüber der abtötenden Wirkung des Phenols, große Zellen etwa doppelt so empfindlich sind wie kleine Zellen. Der Eintritt der abtötenden Wirkung zeigt sich am deutlichsten am Verlauf der Atmungswerte. Wenn man die Atmungshemmung gegen die Phenolkonzentration im Ordinatensystem aufzeichnet, findet sich (s. Abb. 1) im Bereich der nur stoffwechselhemmenden, aber noch nicht abtötenden Konzentration ein gradliniger Verlauf. Die Stoffwechselintensität wird mit Beginn der abtötenden Konzentration merklich geringer. Dabei liegt dann die Größe der Atmungshemmung auch im Bereich des prozentualen Anteils toter Zellen.

Im gesamten Konzentrationsbereich wird die Gärung weniger gehemmt als die Atmung. Auch bei den Konzentrationen, bei denen die Atmung praktisch gleich Null ist, ist die Gärung erst um 50 % herabgesetzt. Dieses dürfte, zumindest zu einem wesentlichen Teil, darauf beruhen, wie auch von Hefemazerationssäften bekannt ist, daß die Gärungsfermente bei Phenolzugabe überleben.

Das "Polyphenol" Istizin zeigte in einer Lösung mit Bodenkörper und in 100 %ig gesättigter Lösung keine für Phenol typischen Wirkungen an Atmung und Gärung weder an großen noch an kleinen Zellen. Auffallend ist immerhin eine mäßige Hemmung der Sprossung. Bei einer dreifachen Verdünnung der gesättigten Lösung zeigte sich bei großen, sprossenden Zellen eine signifikante Erhöhung von Atmung und Gärung, die bei weiterer Verdünnung fehlte. Hier fand sich auch eine deutliche Hemmung der Sprossung. Der Typ der Stoffwechselwirkung ist aber keinesfalls als Phenolwirkung zu deuten, sondern wenn überhaupt, dürfte die Wirkung auf die Chinoneigenschaften der Substanz zurückzuführen sein. Eine solche Deutung scheint erlaubt, da, wie schon ausgeführt wurde, Hefe Istizin zu reduzieren vermag.

Das dem Istizin, 1,8-Dioxyanthrachinon, analoge Cignolin, 1,8-Dioxyanthranol, besitzt eine viel eindeutigere Wirkung. Es hemmt in der gesättigten Konzentration und in dreifacher Verdünnung die Sprossung vollständig, noch bei zehnfacher Verdünnung wird die Sprossung weitgehendst gehemmt. Eine abtötende Wirkung ist nicht nachweisbar. Die Substanz wirkt also mycostatisch. Von dieser eindeutigen und dosisabhängigen Wirkung weicht die Beeinflussung des Stoffwechsels merklich ab. So führt an kleinen und großen Hefezellen eine gesättigte Lösung mit Bodenkörper zur Atmungshemmung und Gärungssteigerung. Bei der gesättigten Lösung und ihren Verdünnungen finden sich an großen Zellen keine eindeutigen Abweichungen von der Kontrolle.

Dagegen findet sich bei kleinen Hefezellen bei den hohen Konzentrationen eine Erhöhung von Atmung und Gärung. Die Deutung dieser verschiedenartigen Stoffwechselwirkungen ist nicht leicht. Sieht man von dem Effekt der Lösung mit Bodenkörper ab, so ergibt sich immerhin eine Parallele zu der vorher besprochenen Istizin-Wirkung. Auch dieses könnte als Chinoneffekt auf den Stoffwechsel gedeutet werden, wenn man annimmt, daß Cignolin zum Teil autoxydabel ist oder durch Hefe oxydiert wird, so daß sich ein Redoxgleichgewicht zwischen Istizin und Cignolin herstellt. Dieses Redoxgleichgewicht fehlt bei der Lösung mit Bodenkörper, da laufend Istizin entsprechend seinem Verbrauch in Lösung geht.

Von Interesse ist die Wirkung des Antibiotikums Chloramphenicol, das in hoher Konzentration eine Sprossungshemmung bei Hefezellen hervorruft, ohne daß eine signifikante Veränderung an Atmung und Gärung nachweisbar war. Eine Hemmwirkung des Chloramphenicols auf die Proteinsynthese, wie sie von Bakterien bekannt ist, erscheint daher auf Stoffwechselreaktionen von *Saccharomyces cerevisiae* wenig wahrscheinlich.

E. ZUSAMMENFASSUNG

1. Aus Bäckerhefe (*Saccharomyces cerevisiae*) wurden durch fraktioniertes Zentrifugieren kleine = wachsende und große = sprossungsbereite Zellen gewonnen.
2. Hefekochsaft und ein Perchlorsäurekaltextrakt aus Hefe steigern bei kleinen Zellen die Atmung um 50 %, während die Gärung unverändert bleibt. Bei großen Zellen ist die Atmung nur um 25 %, dafür die Gärung um ebenfalls 25 % erhöht.
3. Große Zellen sind gegenüber Phenol etwa doppelt so empfindlich wie kleine Zellen. An beiden Zellarten hemmt Phenol die Atmung stärker als die Gärung. Dabei entspricht die Atmungshemmung beinahe in vollem Umfang dem Prozentsatz an abgetöteten Zellen.
4. Istizin hemmt in höheren Konzentrationen die Sprossung um 30 %. Eine zellabtötende Wirkung ist nicht vorhanden. An großen Zellen bewirkt Istizin gleichzeitig eine Steigerung von Atmung und Gärung.
5. Cignolin wirkt in gesättigten Konzentrationen voll sprossungshemmend, bei zehnfacher Verdünnung noch um 70 %. Eine vollgesättigte Lösung hemmt die Atmung und steigert die Gärung. Niedrere Konzentrationen bewirken bei kleinen Zellen dagegen eine Erhöhung von Atmung und Gärung. Für die Stoffwechselwirkungen wird das Zustandekommen eines Redoxpotentials zwischen Anthrachinon- und Anthranolform diskutiert.
6. Chloramphenicol bewirkt in hoher Konzentration eine Sprossungshemmung ohne signifikante Stoffwechselwirkung.

F. LITERATURVERZEICHNIS

1. Warburg, O.:
Über den Stoffwechsel der Tumoren, Berlin 1926
2. Schmid, W.:
Zellwachstum und Zellvermehrung bei Hefe.
Bioch. Z. 329, 560 (1958)
3. Windisch, F.:
Anoxybiotische Zellvermehrung und Wirkungsmodus der
aeroben Wachstumsreaktivierung.
Z. Naturforschg. 8b, 305 (1953)
4. Stossek, K.:
Differenzierung von Wachstum und Vermehrung an synchro-
nisierten Hefezellen.
Dissertation, Marburg 1966
5. Jacobi, G.:
nicht veröffentlicht
6. Dehner, R.:
Über das Verhalten der Phosphopyridinnucleotide der
Hefe bei Vermehrung und Vermehrungshemmung.
Dissertation, Marburg 1966
7. Williamson, D.H. und Scopes, A.W.:
The Behavior of Nucleic Acids in Synchronously Dividing
Cultures of *Saccharomyces cerevisiae*.
Exptl. Cell Res. 20, 338 (1960)
8. Schmitz, H.:
Isolierung von freien Nucleotiden aus verschiedenen
Geweben.
Biochem. Z. 325, 555 (1954)

9. Wortberg, W.:
Trennung vermehrungsanregender Stoffe aus Hefeextrakten
von *Saccharomyces cerevisiae*.
Dissertation, Marburg 1968
10. Dickens, F.:
Baman-Myrbäck: Methoden der Fermentforschung. Bd. 1, 984
Georg Thieme-Verlag, Leipzig 1940
11. Süllmann, H.:
Hoppe-Seyler/Thierfelder, Handbuch d. Physiolog. und
Patholog.-Chem. Analyse. 6A, 55
Springer-Verlag, Berlin 1955
12. Schmid, W.:
Sitzungsberichte d. Gesellsch. z. Förderung d. ges.
Wissenschaften, 451 - 463 (1963)
13. Kreyszig, E.:
Stat. Methoden und ihre Anwendung.
Vandenhoeck u. Rupprecht, Göttingen 1965
14. Schmid, W.:
Zellvermehrung und Zellatmung bei Hefe.
Z. Naturforschg. 7b, 218 (1952)
15. Hauschild, H.:
Pharmakologie und Grundlagen der Toxikologie. S. 69
VEB Georg Thieme-Verlag, Leipzig 1960
16. Schmid, W.:
Zum Wirkungsmechanismus diätischer und medikamen-
töser Darmmittel.
Arzneimittelforschg. 2, 14 (1952)
17. Ippen, H.:
Stoffwechselbeziehungen zwischen Istizin und Cignolin.
Verlagsmanuskript, Hautklinik d. Med. Akad., Düsseldorf 1958

18. Ott, E.:
Pharmakolog. Inst. Marburg, nicht publiziert
19. Berger, H. und Grunicke:
Über den Einfluß von 1,8-Dihydroxy-9-anthron (Cignolin)
auf die Transplantierbarkeit und den Stoffwechsel von
Ehrlich-Ascites-Tumorzellen.
Klin. Wochenschr. 45, 218 (1967)
20. Gillberg, B.O., Zetterberg, G. und Swanbeck, G.:
Petit Mutants induced in Yeast by Dithranol (1,8,9-
trihydroxyanthracene), an Important Therapeutic Agent
against Psoriasis.
Nature 214, 415 (1967)
21. Hauschild, H.:
Pharmakologie und Grundlagen der Toxikologie. S. 197
VEB Georg Thieme-Verlag, Leipzig 1960
22. Harbers, E.:
Die Nucleinsäuren. S. 195
Georg Thieme-Verlag, Stuttgart 1964

Für die freundliche Überlassung des Themas, Förderung und Durchsicht meiner Arbeit, sowie die Übernahme des Referates möchte ich Herrn Prof. Dr. med. W. Schmid herzlich danken.

Herrn Dr. E. Weil danke ich für die Anleitung und Beratung bei der Durchführung der Arbeit.

Herrn Prof. Dr. Dr. H. Heuser darf ich für die Übernahme des Correferates meinen herzlichen Dank aussprechen.

LEBENS LAUF

Am 18.2.1937 wurde ich, Hans-Jürgen Lind, als Sohn des Zahnarztes Dr. Hermann Lind und seiner Frau Hildegard Lind, geb. Bock in Marburg a.d. Lahn geboren.

1943 wurde ich in die Volksschule in Winterberg eingeschult. 1947 trat ich in das Städt. Neusprachl. Progymnasium Winterberg ein. Ab 1954 besuchte ich das Edertalgymnasium in Frankenberg, wo ich am 4. März 1957 die Reifeprüfung ablegte.

Im SS 1957 immatrikulierte ich mich an der Philipps-Universität Marburg. Nach 2 Semestern Germanistik und Anglistik begann ich das Zahnmedizinstudium in Marburg, wo ich am 26.10.1961 die zahnärztliche Vorprüfung bestand. - Das erste klinische Semester belegte ich an der Universität Marburg. Das SS 1962 absolvierte ich an der Universität-Wien und kehrte zum WS 1962/63 nach Marburg zurück. Am 21. September 1967 bestand ich hier das Zahnmedizinische Staatsexamen.

Vom 15.11.1964 - 31. 3. 1966 war ich als Assistent an der Klinik für Zahn-, Mund- und Kieferkrankheiten der Universität Marburg tätig. Vom 1.4. bis 31.12.1966 war ich als Zahnarzt in der Kieferchirurgischen Abteilung des Städt. Rudolf-Virchow-Krankenhauses in Berlin angestellt.

Im Februar 1967 begann ich mit den Versuchen zur vorliegenden Arbeit im Pharmakologischen Institut der Universität Marburg.

Meine akademischen Lehrer waren die Herren Professoren und Dozenten:

in Marburg: Braun-Falco, Dimroth, Gedigk, Hamm, Hartmann, Hennis, Hering, Heuser, Hornung, Janke, Kottmeyer, Lang, Löhr, Mahr, Marx, Maurath, Meyer, Niessing, Oksche, Pantke, Petry, Rollhäuser, Rosemann, Schmid, Seidel, Siegert, Siess, Vogt, Walcher.
in Wien: Langer, Ullik.

